

0-776956

На правах рукописи

БЕРЕЖНАЯ ЛЮЦИЯ ШАМИЛЕВНА

**СИНТЕЗ И СВОЙСТВА НОВЫХ ФОСФОРИЛИРОВАННЫХ
МЕТАНОФУЛЛЕРЕНОВ**

02.00.03 – Органическая химия

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата химических наук

Казань 2009

Работа выполнена в лаборатории Химии углеродных наноматериалов
Учреждения Российской академии наук Института органической и физической
химии им. А.Е. Арбузова Казанского научного центра РАН

Научный руководитель:

доктор химических наук,
член - корр. АН РТ, профессор
Нуретдинов И.А.

Официальные оппоненты:

доктор химических наук,
член - корр. РАН, профессор
Джемилев У.М.

НАУЧНАЯ БИБЛИОТЕКА КГУ



0000556094

доктор химических наук,
профессор Бурилов А.Р.

Ведущая организация:

Учреждение Российской
академии наук Институт
проблем химической физики
научного центра РАН
в Черноголовке

Защита диссертации состоится «3» июня 2009 года в 14 часов 30 мин. на заседании диссертационного совета Д 022.005.01 при Учреждении Российской академии наук Института органической и физической химии им. А.Е. Арбузова Казанского научного центра Российской академии наук по адресу: 420088, г.Казань ул. акад. Арбузова, 8, конференц – зал ИОФХ КазНЦ РАН.

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке Учреждения Российской академии наук Института органической и физической химии им. А.Е. Арбузова КазНЦ РАН.

Отзывы на автореферат просим направлять по адресу: 420088, г. Казань, ул. Арбузова, 8, Учреждение Российской академии наук Институт органической и физической химии им. А.Е. Арбузова Казанского научного центра РАН.

Автореферат диссертации разослан «29 апреля» 2009 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета
кандидат химических наук

Муратова Р.Г.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Фуллерены – новая аллотропная форма углерода, привлекают внимание исследователей своими возможностями практического применения в науке, в биологии и медицине, в полупроводниковой технике и нанoeлектронике, в качестве материалов для нелинейной оптики, включением фуллеренов в полимерные системы. Основные направления получения новых материалов и биологически активных соединений на основе фуллеренов связаны с их функционализацией при помощи различных реагентов. В химии фуллерена наиболее широко изучаются фуллеропирролидины, получаемые по реакции Прато и метанофуллерены, получаемые по реакции Бингеля-Хирша. Необходимо отметить, что фуллеропирролидины и метанофуллерены являются до последнего времени наиболее часто применяемыми производными фуллеренов при получении биологически активных препаратов и материалов для создания наноустройств. Методы их синтезов достаточно хорошо разработаны для получения больших количеств производных фуллеренов для проведения широких испытаний их свойств. На основе метанофуллеренов созданы элементы для получения «солнечных ячеек» и лекарственные препараты для лечения заболеваний человека. Поэтому **актуальным** является разработка методов получения новых метанофуллеренов, в том числе содержащих фосфорильные, нитроксидные и тиофеновые фрагменты, и изучение строения и свойств полученных соединений. Подобные соединения могут быть полезны при получении новых биологически активных соединений и компонентов для создания наноустройств.

Целью работы является: разработка эффективных методов получения различных фосфорорганических производных фуллеренов, изучение их строения и свойств; метанофуллеренов, содержащих нитроксидные группы, изучение их свойств и биологической активности и метанофуллерена, содержащего тиофеновые группы на основе реакции Бингеля-Хирша. Изучение способности метанофуллеренов образовывать пленки Ленгмюра-Блоджетт на границе вода-воздух и свойства этих пленок.

Научная новизна работы. Впервые разработан метод получения ранее неизвестных фосфорорганических метанофуллеренов взаимодействием фуллерена C_{60} и C_{70} с производными бромфосфонкусусной кислоты и дифосфонметана в присутствии гидрида натрия или диазбициклоундецена (DBU) в качестве основания. Этот метод имеет преимущество перед другими в выходе целевых продуктов (до 80%) и относительной скорости протекания реакции.

Рассмотрен механизм протекания ретро-реакции Бингеля в условиях электрохимического восстановления метанофуллеренов и установлены основные параметры этого процесса.

Впервые получены метанофуллерены, содержащие в своем составе от одного до четырех нитроксидных фрагментов, изучена их биологическая активность и строение при помощи спектральных методов.

Впервые синтезирован 3-тиофенметилловый эфир малоновой кислоты и на его основе соответствующий метанофуллерен.

Впервые выявлены способность синтезированных метанофуллеренов к образованию пленок Ленгмюра-Блоджетт на границе вода-воздух и условия их формирования.

Практическая значимость работы. Разработанные методы позволяют получать ранее неизвестные метанофуллерены в больших количествах, достаточных для обеспечения биологических исследований. В данной работе показана возможность

получения высокоэффективных антилейкемических комбинированных препаратов на основе бис-нитроксидного малонатного метанофуллерена и известного цитостатика ЦИКЛОФОСФАМИД, позволяющих вылечивать около 70% зараженных лейкемией Р-380 мышей без сохранения симптомов лейкемии.

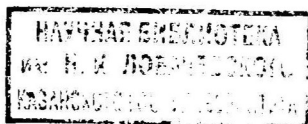
При исследовании строения бис-нитроксидных метанофуллеренов методом время разрешенной ЭПР спектроскопии впервые установлена сверхтонкая структура возбужденного квинтетного состояния, что имеет значение для исследования строения вещества в жидких растворах.

Апробация работы. Материалы диссертации докладывались в качестве стендовых и устных докладов и обсуждались на международном симпозиуме «Фуллерены и атомные кластеры», Санкт-Петербург, Россия, 2003г., 2005г., 2007г.; XVIII Менделеевском съезде, Москва, 2007г.; международной конференции «Химия высокоорганизованных веществ и научные основы нанотехнологии.», С-Петербург, 2004 г.; Third International symposium Molecular design and synthesis of supramolecular architectures, Kazan, Russia, 2004 г.; XIV International conference on chemistry of phosphorus compounds, Kazan, Russia, 2005г., Российская конференция с международным участием «Масс-спектрометрия и ее прикладные проблемы», Москва, 2005г., III международная конференция «Высокоспиновые молекулы и молекулярные магнетики», Иваново, 2006г., VI Всероссийский научный семинар «Химия и медицина», Уфа, 2007г.

Публикации: по теме диссертации опубликовано 17 печатных работ в рецензируемых российских и международных журналах и тезисы 18 докладов на различных всероссийских и международных конференциях.

Работа выполнена в лаборатории Химии углеродных наноматериалов Учреждения Российской академии наук Института органической и физической химии им. А.Е. Арбузова КазНЦ РАН в соответствии с научным направлением по п/б теме «Электронное строение, стабильность и реакционная способность фуллеренов и их производных. Разработка подходов к созданию на их основе полимерных материалов, включая токопроводящие пленки» (№ гос.рег. 0120.0503491). Работа поддержана грантами РФФИ (проекты № 02-03-32900, № 05-03-32633, № 01-03-32181-а, № 09-03-00931-а) и Академии наук Республики Татарстан (№ 03-03-96246, № 07-7.3-142, № 07-7.3.2).

Объем и структура диссертации. Диссертация изложена на 145 страницах и включает введение, литературный обзор, обсуждение собственных результатов, экспериментальную часть, выводы и список использованной литературы (154 наименования). Текст диссертации проиллюстрирован 44 схемами, 37 рисунками, 6 таблицами,



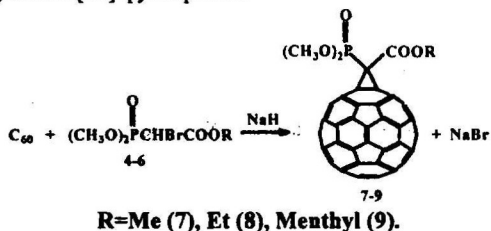
ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

СИНТЕЗ И СВОЙСТВА НОВЫХ ФОСФОРИЛИРОВАННЫХ МЕТАНОФУЛЛЕРЕНОВ

1. Синтез моно-и дифосфорилированных метанофуллеренов C₆₀ и C₇₀

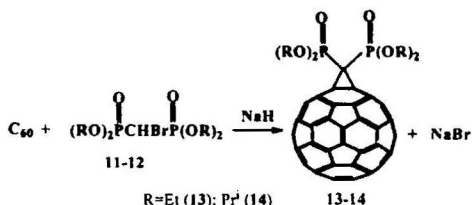
Циклоприсоединение к C₆₀ карбанионов, генерируемых из α-галоген-замещенных соединений - это наиболее эффективный путь синтеза метанофуллеренов. Впервые такой метод функционализации фуллереновой сферы описал Бингель. Введение в молекулу C₆₀ различных «фармакофорных» и реакционноспособных групп может привести к новым соединениям с биологическими и другими полезными свойствами. Известно, что введение фосфорильной группы вместо карбонильной в молекулы органических соединений приводит к существенным изменениям их свойств. Поэтому нами был предпринят синтез метанофуллеренов C₆₀ и C₇₀, содержащих в своем составе одну или две фосфорильные группы.

При взаимодействии эфиров фосфоно(бром)уксусной кислоты с фуллереном C₆₀ в присутствии гидрида натрия происходит образование 61-алкоксикарбонил-61-(диметоксифосфорил)метано[60] фуллеренов.



Реакции протекают в мягких условиях, при перемешивании в среде толуола, при комнатной температуре. Для выделения продуктов этих реакций была использована колоночная хроматография на силикагеле при постоянном контроле методом ВЭЖХ. Строение и состав полученных соединений подтверждены физико-химическими методами и элементным анализом. Таким образом, были получены новые фосфорилированные метанофуллерены и показано, что мягкие условия синтеза позволяют ввести в молекулу C₆₀ различные функциональные группы.

Продолжением этих работ стал синтез бис(диалкоксифосфорил) метанофуллеренов C₆₀ и C₇₀. При взаимодействии бис(диалкоксифосфорил)бромметанов с фуллереном C₆₀ в присутствии гидрида натрия в толуоле образуются соответствующие бис(диалкоксифосфорил)метанофуллерены 13 и 14.



Практически за один час при комнатной температуре в среде толуола в этой реакции полностью расходуется исходный фуллерен C_{60} и образуется моноаддукт **13** с выходом ~ 72 %. Образование соединения **14** протекает еще быстрее (15-20 мин.) и с таким же высоким выходом (~80 %). Полученные фосфорилированные метанофуллерены выделены колоночной хроматографией на SiO_2 , строение доказано комплексом физико-химических методов. Строение соединения **14** доказано методом рентгеноструктурного анализа.

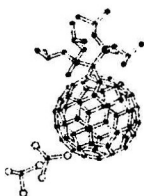
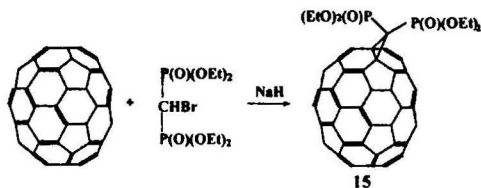


Рис. 1. Геометрия комплекса метанофуллерена **14** с хлороформом в кристалле. Атомы водорода не показаны.

Нами изучено взаимодействие бис(диэтоксифосфорил)бромметана с фуллереном C_{70} в присутствии гидрида натрия в качестве основания в толуоле. Реакция протекает при комнатной температуре и приводит в основном к образованию бис(диэтоксифосфорил)метанофуллерена C_{70} . Ход реакции контролировался методом ВЭЖХ.

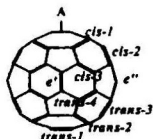


В молекуле фуллерена C_{70} имеется три типа неэквивалентных 6,6-связей (a-b, c-c и d-e), вследствие чего могут образовываться три продукта - A, B и C. Сопоставив квантово-химические расчеты теплот образования продуктов реакции со спектральными данными и литературными аналогиями полученному метанофуллерену C_{70} была приписана структура, отвечающая присоединению по типу a-b.

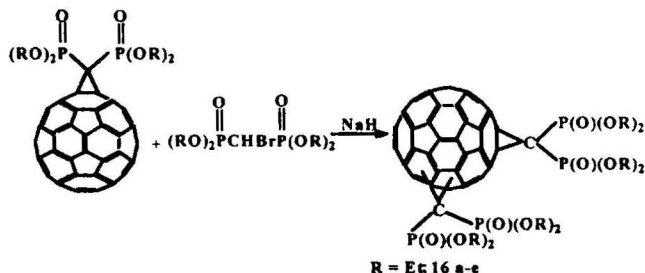
2. Синтез региоизомеров бис-метанофуллерена, содержащего диэтоксифосфонатные группы.

Известно, что растворимость в воде метанофуллеренов на основе эфиров малоновой кислоты зависит от числа карбоксильных групп в молекуле. При наличии в молекуле шести карбоксильных групп трис-метанофуллерен растворяется в нейтральной воде (при pH 7). Такие соединения представляют интерес в плане биологической активности для получения водорастворимых производных фуллерена C_{60} в результате гидролиза соответствующих изомеров.

Чтобы наглядно описать пространственное расположение присоединенных групп, молекула C_{60} подразделяется относительно места двойной атаки в трех областях на полушарии: *cis* (*cis-1*, *cis-2*, *cis-3*), *экватор* (*e*) и *trans* (*trans-1*, *trans-2*, *trans-3*, *trans-4*).



В связи с вышесказанным, нами было изучено образование бис-метанофуллерепа, содержащего в молекуле четыре фосфорильные группы. Синтез соединения проходит в результате взаимодействия карбаниона бис(диэтоксифосфорил)бромметана с бис(диэтоксифосфорил) метанофуллереном.



16 a - *trans-1* - 5.3 % (10 мг)

16 b - *trans-2* - 23.9 % (45 мг)

16 c - *trans-3* - 34.3 % (64.6 мг)

16 d - *trans-4* - 8.0 % (15.1 мг)

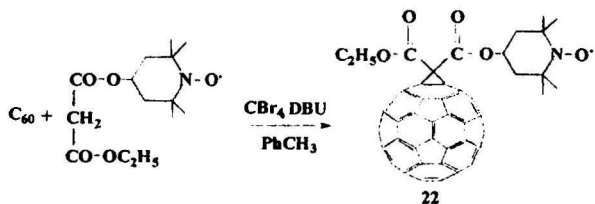
16 e - *e* - 28.5 % (53.8 мг).

В реакционной массе по данным ВЭЖХ анализа имелось пять основных веществ, которые были выделены колоночной хроматографией на SiO_2 при постоянном контроле методом ВЭЖХ. В ходе реакции из-за стерической загруженности присоединяемого адденда практически совсем не образуются *cis*-изомеры. Предпочтительными продуктами в синтезе соединений **16 a-e** являются *trans-3*, *e* и *trans-2* изомеры. Все выделенные соединения хорошо растворимы во многих органических растворителях. Строение полученных соединений установлено спектральными методами.

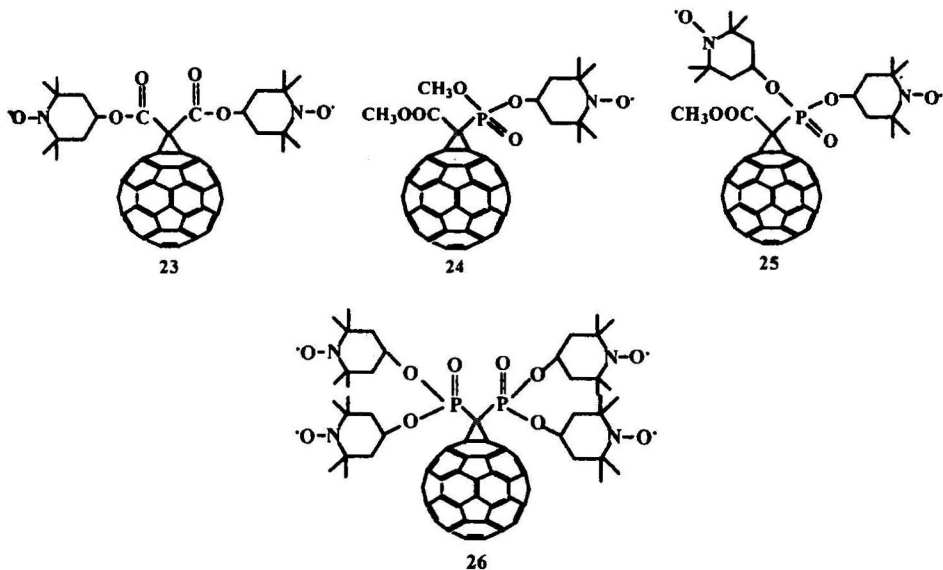
3. Синтез нитроксидсодержащих метанофуллеренов.

Как сам фуллерен, так и его производные, молекулы которых обладают электроноакцепторными свойствами, способны выступать в роли ловушек для свободных радикалов. При этом функционализированные производные фуллеренов более реакционноспособны к свободным органическим радикалам, чем незамещенный фуллерен C_{60} . Поэтому нитроксидсодержащие метанофуллерены вызывают особый интерес, так как сочетание в молекуле метанофуллеренового, фосфонатного фрагментов и нитроксильного радикала, каждый из которых обладает определенным набором свойств, может привести к соединениям с новыми биологически активными свойствами.

Основываясь на этих данных, нами были синтезированы ранее неизвестные малонатные и фосфорилированные метанофуллерены. При взаимодействии нитроксидсодержащих эфиров малоновой, фосфонуксусной и метилendifосфоновой кислот и фуллерена C_{60} в присутствии тетрабромметана (CBr_4) и 1,8-диазабисцикло(5,4,0)ундец-7-ена (DBU) происходит образование соответствующих нитроксидсодержащих метанофуллеренов 22-26.

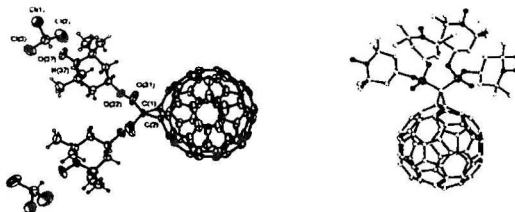


В аналогичных условиях были получены соединения 23, 24, 25, 26. Необходимо отметить, что синтез соединения 26 проходит в присутствии как DBU, так и гидрида натрия одновременно.



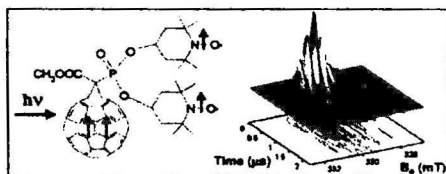
Полученные соединения выделены колоночной хроматографией на SiO_2 , идентифицированы УФ, ИК, ЯМР ^{13}C , ЭПР-методами и рентгеноструктурным анализом (23, 26). Состав соединений подтвержден методом масс-спектрометрии MALDI TOF. Чистота соединений контролировалась ВЭЖХ – методом.

Строение соединений 23 (рис.слева) и 26 (рис.справа) доказано методом PCA.



Наличие нитроксильных фрагментов в молекулах синтезированных соединений подтверждается методом ЭПР.

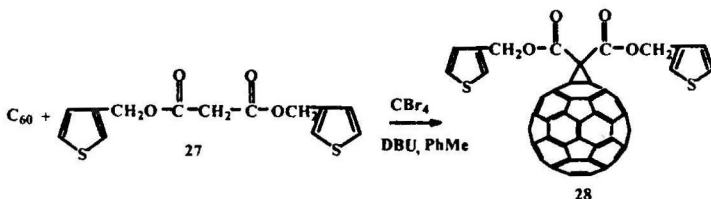
Следует отметить, что исследование методом время-разрешенной ЭПР спектроскопии метанофуллеренов с биснитроксидными радикалами позволило выявить фундаментальные свойства молекул этих соединений. К. Корвайя и сотрудники впервые наблюдали возбужденное квинтетное состояние в жидких растворах, которое имело место при взаимодействии возбужденного триплета фуллереновой оболочки со спинами двух нитроксидных радикалов. Был зарегистрирован время-разрешенный ЭПР спектр соединения **25** в толуоле.



4. Синтез метанофуллерена, содержащего тиофеновый фрагмент.

Известно, что при создании композитных устройств для получения электрической энергии при использовании солнечного света широко используются тиофенсодержащие полимеры. Для изучения возможности получения таких материалов, содержащих фуллереновую оболочку в боковой цепи нами был предпринят синтез тиофенового производного малоновой кислоты.

Реакцией фуллерена C_{60} , бис(тиофено-3-метилкарбокси)метана в присутствии CBr_4 и DBU, был получен 61-бис(тиофено-3-метилкарбокси)метано[60]фуллерен. Соединение **28** было выделено колоночной хроматографией на SiO_2 . Строение этого вещества подтверждено спектральными методами, методом PCA, состав масс-спектроскопией MALDI TOF.



5. Электрохимическое и ЭПР исследование фосфорилированных метанофуллеренов

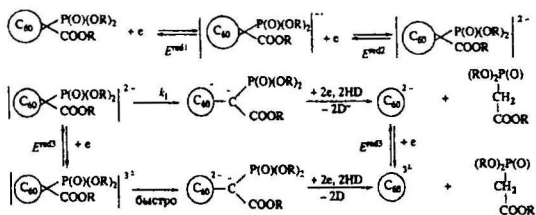
Особое место в электрохимических исследованиях занимают метанофуллерены, что обусловлено поиском новых материалов и биологически активных препаратов. Методами ЦВА и электролиза в сочетании с ЭПР, а также квантово-химических расчетов было исследовано электрохимическое восстановление и стабильность образующихся интермедиатов синтезированных фосфорилированных метанофуллеренов.

Следует отметить, что в этих работах впервые был предложен механизм электрохимического ретро-циклопропанирования (ретро-реакция Бингеля) для малонатного фуллерена и фосфорилированных производных фуллерена.

5.1. Моно – и дифосфорилированные метанофуллерены. Ретро-реакция Бингеля.

Соединения 7-9 восстанавливаются трехступенчато практически при одних и тех же потенциалах, однако несколько труднее C_{60} . Образующиеся анион-радикалы стабильны и регистрируются методом ЭПР ($g\ 1.9998 \div 1.9999$, $\Delta H\ 0.20 \div 0.28$ мТ). При более длительном восстановлении они частично обратимо переходят во вторичные димерные радикалы ($g\ 2.0004 \div 2.0010$, $\Delta H\ 0.020 \div 0.028$ мТ).

В дианионах соединений, образующихся при потенциалах переноса второго электрона, происходит медленное ($k_1 = 0.24 - 0.32\ c^{-1}$), а в трианионах быстрое (выше скорости подвода вещества к поверхности электрода) постадийное расщепление С-С связей фуллереновой оболочки с метаноуглеродом с переносом электронов, элиминированием заместителей и образованием дианиона C_{60}^{2-} и трианион-радикала C_{60}^{3-} соответственно (ретро-реакция Бингеля). При последующем окислении этих анионов образуется C_{60} , который был идентифицирован хроматографически (ВЭЖХ). Процесс восстановления соединений 7-9 при потенциалах трех волн может быть описан схемой.



Для бис(диэтоксифосфорил)- и бис(диизопропоксифосфорил)метано [60]фуллеренов 13-14 и бис(диэтоксифосфорил)метано[70]фуллерена 15 методом циклической вольтамперометрии в системе о-дихлорбензол-ДМФА (3:1 v/v)/ Bu_4NBF_4 (0.1 моль l^{-1}) на стеклоуглеродном электроде регистрируется четыре пика восстановления $E_{p,red}$, а на обратной ветви соответствующие им четыре пика окисления $E_{p,ox}$.

Электрохимическое восстановление дифосфонметанофуллеренов 13-15 протекает аналогично восстановлению диметоксифосфорил(алкоксикарбонил) метано[60]фуллеренов 7-9 лишь с тем отличием, что в данном случае процессы элиминирования метаноугруппы

реализуются с высокой скоростью на стадии дианиона. Это значит, что дифосфонметаногруппа в процессах электронного переноса является лучшей уходящей группой, что позволяет предложить их в качестве защитных. В настоящее время в химии фуллеренов метаногруппа рассматривается в качестве таковой, введение которой и последующее снятие после функционализации фуллерена открывает перспективы в синтезе новых производных фуллерена. Наличие двух диалкоксифосфорильных групп повышает нуклеофугность метаногруппы. Поскольку эта группа и вводится легче, то является более предпочтительным ее использование в качестве защитной.

5.2. Региоизомерные бис[бис(диэтоксифосфорил)метано][60]фуллерены.

Для региоизомерных бис[бис(диэтоксифосфорил)метано][60] фуллеренов **16 а-е** в среде *о*-ДХБ-ДМФА (3:1 об./об.)/0.1М Bu₄NBF₄ на стеклоуглеродном электроде регистрируется четыре ступени восстановления и соответствующие им четыре ступени окисления.

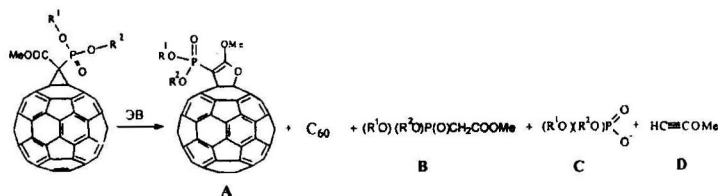
Электрохимическое исследование в сочетании с ЭПР-методом показало, что первый пик восстановления по данным ЦВА является обратимым для всех изомеров. Это свидетельствует о том, что анион-радикалы бис-метанофуллеренов *tr-1*, *tr-2*, *tr-3*, *e* при потенциалах первого пика вполне устойчивы в данной среде при комнатной и пониженной температуре, не вступают в последующие превращения и в заметной степени не элиминируют метаногруппу по крайней мере в течение 30 мин. В анион-радикале *tr-4* изомера, вполне устойчивого при пониженной температуре, при комнатной температуре происходит медленное раскрытие циклопропанового кольца, элиминирование одной метаногруппы и процесс длительного электролиза при потенциалах первого пика приводит в конечном счете к анион-радикалам монометано[60]фуллерена и [60]фуллерена.

При потенциалах второго пика происходит перенос электрона на анион-радикалы бис-метанофуллеренов с образованием дианионов. Для всех изомеров дианионы неустойчивы и претерпевают быстрые превращения, т.е. расщепление С-С связи и раскрытие циклопропанового фрагмента с образованием дианиона, из которого далее через параллельные процессы протонирования метаноуглерода и восстановления в трианион-радикал получаются дианионы монометанофуллерена и анион бис (диэтоксифосфорил)метана. Аналогичное превращение претерпевает и дианион монометанофуллерена с образованием, в конечном счете дианиона фуллерена C₆₀²⁻.

5.3. Фосфорилированные метанофуллерены содержащие один или два нитроксильных радикала

С привлечением модельных соединений методами циклической вольтамперометрии, ЭПР с *in situ* электролизом, препаративного электролиза с последующим ВЭЖХ и ЯМР ³¹P контролем реакционной смеси исследовано электрохимическое восстановление фуллереновой сферы, восстановления нитроксила фосфорилированных метанофуллеренов **24**, **25** в системе *о*-дихлорбензол-ДМФА (3:1, по объему)/0.1 М Bu₄NBF₄. На ЦВА-кривых регистрируется четыре основных пика восстановления, отвечающие переносу электронов на фуллереновую сферу, и соответствующие им четыре пика реокисления. При потенциалах первой ступени происходит перенос одного электрона на фуллереновую сферу с образованием достаточно стабильных бирадикал-анионной и трирадикал-анионной систем для **24** и **25**, соответственно.

При потенциалах второй ступени восстановления генерируются фуллеренцентрированные дианионы. Перенос второго электрона на фуллереновую сферу индуцирует два параллельных процесса: внутримолекулярный перенос электрона с фуллереновой сферы на нитроксильный радикал с образованием аниона гидросиламина и раскрытие трехчленного цикла. Интермедиат с раскрытым циклом стабилизируется циклизацией в фуллеродигидрофуран **A** (в минорных количествах) или протонированием и элиминированием адденда в виде карбаниона, т.е. протекает ретро-реакция Бингеля (основной процесс). Карбанион в свою очередь протонируется с образованием фосфоната **B** или перегруппировывается с образованием фосфат иона **C** и ацетилена **D** (см. схему). Все эти химические реакции существенно ускоряются при переносе третьего электрона на фуллереновую сферу. Фуллерен C_{60} также является основным продуктом восстановления метанофуллеренов при потенциалах четвертого пика и последующем реокислении.



6. Взаимодействие фосфорилированных метанофуллеренов со свободными радикалами

Реакционная способность фуллерена и его производных улавливать радикалы очень привлекательны для медицинской химии. В биологических системах наиболее распространенными и активными радикалами являются различные активные формы кислорода, которые участвуют в процессах окисления. Поэтому, обладая антиоксидантными свойствами, фуллереновые производные являются интересными объектами в плане биологической активности. Кроме того, перспективность их применения обусловлена достаточно низкой токсичностью, производные C_{60} не являются канцерогенами.

С этой целью в институте элементоорганических соединений им. А.Н. Несмеянова методом ЭПР изучены аддукты присоединения различных радикалов к метанофуллеренам **7**, **13**, а также к региоизомерам $C_{60}[C[P(O)(OEt)_2]_2]_2$. Было показано, что фосфорилированные метанофуллерены **7** и **13** в реакции присоединения свободных радикалов более реакционноспособны, чем фуллерен C_{60} , поскольку доминирующим направлением атаки радикалами является та же полусфера фуллерена, к которой уже присоединен метанофрагмент. Наличие метанофрагмента приводит к деформации углеродного остова, что способствует изменению кривизны поверхности фуллерена, введению стерических препятствий, проявлению полярных эффектов вблизи присоединенных групп, что ведет к заметному увеличению активности отдельных углеродных атомов в присоединении к ним свободных радикалов. Согласно квантово-химическим расчетам для соединений **7** и **13** пирамидальность и, соответственно, реакционная способность шести атомов углерода увеличены по сравнению с фуллереном C_{60} . Также было установлено, что определенные в данной работе константы скорости

присоединения радикалов к метано[60]фуллеренам приблизительно на порядок больше соответствующей константы присоединения к отдельному углеродному атому в C_{60} .

При присоединении радикалов R^\cdot к производным фуллерена, содержащим два метанофрагмента, на первый план выступает стерическое экранирование, которое зависит от взаимного расположения фосфорорганических групп. Было установлено, что количество стабильных региоизомеров фосфорил-фуллеренильных радикалов при присоединении фосфилов к изомерам $C_{60}\{C[P(O)(OEt)_2]_2\}_2$ зависит от взаимного расположения фосфорорганических групп и убывает в ряду *trans*-2 > *trans*-4 \approx *trans*-3 > *e*.

7. Монослой Ленгмюра на основе фосфорилированного метанофуллерена. Совместимость фосфорилированных производных фуллерена и лецитина. Влияние ионов меди на состояние монослоев

Ряд производных фуллерена имеет в молекуле фрагменты, входящие в состав лекарственных препаратов, применяемых в онкологии. Поэтому исследования межмолекулярных взаимодействий в системе «фуллереновое производное – биологическая среда» являются очень важными. Моделями таких систем могут служить монослой производного фуллерена на межфазной границе «водный раствор – воздух» и пленки на границе «твердое тело – водный раствор». Ионы металлов и pH среды оказывают влияние на поведение биосистемы.

Исследования проводились в Нижегородской государственной медицинской академии проф. Н.Б. Мельниковой и аспирантом Н.В. Губановой. Для исследований использовали 61-метоксикарбонил-61-(диметоксифосфорил)метано[60]фуллерен (7).



Исследования показали, что молекулы производного фуллерена образуют на поверхности воды плотно упорядоченный монослой, в котором каждая молекула примыкает к соседней и контактирует с водной подложкой. Причем высокое значение поверхностного давления ($\pi \approx 70$ мН/м) указывает на практически полное выталкивание гидрофобной части молекулы из водной подложки на ее поверхность. Было установлено, что соединение 7 дает стабильные монослои в широком интервале pH. Присутствие в субфазе ионов Cu^{2+} , Zn^{2+} в нейтральных и слабокислых средах изменяет структуру монослоев (предельная площадь на молекулу значительно уменьшается до значения 0.75 нм^2).

Для биологических исследований необходимо получать функциональные производные, растворимые в воде или полярных средах. Это связано с доставкой лекарственного соединения к пораженному органу. Поэтому для не растворимых в воде, но физиологически активных производных необходимо найти удобную форму лекарственного препарата. Такой формой может служить везикулярная или липосомальная. Основу везикулы или липосомы составляет липид, способный самоорганизовываться в замкнутые полости, оболочку которой составляют один или

несколько бислоев. В работе исследовались свойства монослоев Ленгмюра и бислоиных везикулярных структур на основе фосфорилированного метанофуллерена 7 и липида – 1-пальмитоил-2-олеил-sn-глицеро-3-фосфатидилхолина (лецитин) методами изучения диаграмм сжимаемости, электронной спектроскопии и атомно-силовой микроскопии при следующих молярных соотношениях в системе «Р-метанофуллерен-лецитин» 1:0; 1:2; 1:5; 1:7; 1:20; 0:1. Полученные данные о незначительных межмолекулярных взаимодействиях в растворах при молярном соотношении 1:5 позволили сделать предположение о формировании гомогенной (смешанной) пленки из фосфорилированного метанофуллерена и лецитина на межфазной поверхности: «вода – воздух». Наиболее вероятным является включение молекул метанофуллерена в монослой лецитина, при котором фосфорилированная группа контактирует с водой. Методом атомно-силовой микроскопии доказана способность фосфорилированного метанофуллерена и лецитина к образованию устойчивых везикулярных структур, показано, что ионы меди (II) способны включаться в бислоиные везикулярные структуры на основе смеси «Р-метанофуллерен – лецитин», в присутствии которых размер везикул увеличивается почти вдвое.

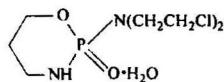
8. Биологическая активность малонатных биснитроксидных соединений

Известно, что введение нитроксидных радикалов в состав некоторых фосфорилированных алкилирующих противоопухолевых препаратов приводит к уменьшению их токсичности для теплокровных и повышению противоопухолевой активности. Нитроксидные радикалы, проявляющие свойства антиоксидантов, привлекают внимание с точки зрения защиты нормальных клеток и тканей от токсической стороны эффекта цитостатики, а также повышения химиотерапевтической чувствительности опухолевых клеток.

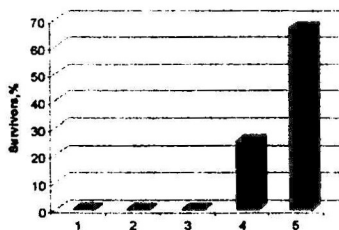
Основываясь на этих данных, нами была изучена антираковая активность бис-(*O*-2',2',6',6'-тетраметил-4'-оксипиперидинилоксил)карбонилметана (18) и 61-Бис-(*O*-2',2',6',6'-тетраметил-4'-оксипиперидинилоксил)карбонил-61-метано-[60]-фуллерена (23).

Все исследования по испытанию соединений 18 и 23 противораковую активность были проведены в Институте проблем химической физики РАН (г. Черноголовка, Московская область) под руководством проф. Н.П. Коноваловой.

Для оценки терапевтической активности соединений 18 и 23 использовали экспериментальную опухолевую модель на штаммах лейкемии Р-388. Эти соединения применялись в комбинации с цитостатическим препаратом циклофосфамидом (ЦФА):



Исследования показали следующие результаты: индивидуальное введение циклофосфамида, 18 и 23 не имеет эффекта излечения животных с лейкемией Р-388. Комбинированная терапия циклофосфамидом в сочетании с 18 и 23 дала в результате выживание животных на 20 и около 70 %, соответственно. Следует отметить, что использование соединения 23 было более эффективным, чем использование 18. Выжившие животные не имеют симптомов лейкемии.



Влияние 18 и 23 на эффективность комбинированной терапии лейкемии Р-388. Колонка 1: 30 мг/кг ЦФА; колонка 2: 50 мг/кг соединения 18; колонка 3: 200 мг/кг соединения 23; колонка 4: ЦФА + 18 (те же дозы); колонка 5: ЦФА + 23 (те же дозы). Каждая группа включает в себя 10 животных.

Таким образом, наличие фуллереновой сферы и нитроксидных радикалов в одной молекуле позволяет проявить свои защитные свойства на животных, носителях лейкемии Р-388, при применении их в комбинации с антираковым препаратом циклофосфамидом. Полученный результат предоставляет возможность модифицирования биологических реакций для химиотерапии опухолей при применении фуллереновых производных, содержащих нитроксильные радикалы.

ОСНОВНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ И ВЫВОДЫ

1. На основе реакции Бингеля разработан метод получения новых моно- и дифосфорсодержащих метанофуллеренов C_{60} и C_{70} .
2. Впервые получены малонатные и фосфорилированные метанофуллерены, содержащие от одного до четырех нитроксидных радикала с биологически активными свойствами.
3. Впервые получены, выделены и охарактеризованы 5 региоизомеров [бис(диэтоксифосфорил)метано]фуллерена.
4. Методом циклической вольтамперометрии и электролиза в сочетании с ЭПР исследовано электрохимическое восстановление и стабильность образующихся интермедиатов синтезированных производных C_{60} и C_{70} в сравнении с фуллереном C_{60} . Впервые рассмотрен механизм ретро-реакции Бингеля. Показано, что дифосфонметаногруппа в процессах электронного переноса является лучшей уходящей группой и предложено ее использование в качестве защитной в химии фуллеренов.
5. Изучены радикальные реакции монометанофуллеренов и бисметанофуллеренов. Показано, что метанофуллерены являются на порядок более активными в присоединении радикалов, чем фуллерен C_{60} .
6. Получены монослои и пленки Ленгмюра-Блоджетт на основе фосфорилированного метанофуллерена, а также изучены межмолекулярные взаимодействия в смешанных монослоях с лецитином с образованием везикулярных структур. Показано, что включение ионов меди Cu^{2+} в везикулярные структуры увеличивает размер везикул в два раза.
7. Исследования метанофуллеренов, содержащих нитроксидные радикалы на противоопухолевую активность позволили выявить их защитные свойства в комбинированной терапии с циклофосфамидом на штаммах лейкемии Р-388.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИИ ИЗЛОЖЕНО В СЛЕДУЮЩИХ ПУБЛИКАЦИЯХ:

1. Нуретдинов И.А. Синтез фосфорилированных метанофуллеренов./ И.А. Нуретдинов, В.П. Губская, Л.Ш. Бережная, А.В. Ильясов, Н.М. Азанчеев.// Изв.АН. Сер. хим. - 2000.- № 12.- С. 2083-2085.
2. Нуретдинов И.А. Электрохимическое восстановление некоторых метанофуллеренов. О механизме ретро-реакции Бингеля./ И.А. Нуретдинов, В.В. Янилкин, В.П. Губская, Н.И. Максимюк, Л.Ш. Бережная.// Изв. АН. Сер. хим.- 2000.- № 3.- С. 426-429.
3. Нуретдинов И.А. Взаимодействие карбанионов бис(диалкоксифосфорил) бромметана с фуллеренами C_{60} и C_{70} ./ И.А. Нуретдинов, В.П. Губская, Н.И. Шишикина, Г.М. Фазлеева, Л.Ш. Бережная, И.П. Карасева, Ф.Г. Сибгатуллина, В.В. Зверев.// Изв. Академии наук.-2002.- № 2.- С. 317-320.
4. Янилкин В.В. Ретро-реакция Бингеля при электрохимическом восстановлении бис(диалкоксифосфорил)метанофуллеренов./ В.В. Янилкин, Н.В. Настапова, В.П. Губская, В.И. Морозов, Л.Ш. Бережная, И.А. Нуретдинов.// Изв. АН. Сер. хим.- 2002.- № 1.- С. 70-75.
5. Нуретдинов И.А. ЭПР-характеристики и превращения полупродуктов восстановления метанофуллеренов./ И.А. Нуретдинов, В.И. Морозов, В.П. Губская, В.В. Янилкин, Л.Ш. Бережная, А.В. Ильясов.// Изв. АН. Сер. Хим.- 2002.- № 5.- С. 750-753.
6. Yanilkin V.V. Electrochemical Synthesis and Transformations of Substituted Methano[60]Fullerenes./ V.V. Yanilkin, V.I. Morozov, A.v. Toropchina, N.V. Nastapova, V.P. Gubskaya, L.Sh. Berezhnaya; and I.A. Nuretdinov.// Fullerenes, nanotubes, and carbon nanostructures.- 2004.- V 12.- № 1.- P. 221-227.
7. Гасанов Р.Г. Константы скорости присоединения радикалов OP^{\cdot} (OPr^1)₂ Me_3C^{\cdot} и $Me(CH_2)_3C^{\cdot}H_2$ к метано[60]фуллеренам $C_{60}CX^1X^2$ ($X^1=X^2=CO_2Et$; $X^1=CO_2Me$, $X^2=OP(OMe)_2$; $X^1=X^2=OP(OEt)_2$)/ Р.Г. Гасанов, В.В. Башилов, Б.Л. Туманский, В.И. Соколов, И.А. Нуретдинов, В.В. Зверев, В.П. Губская, Л.Ш. Бережная.// Изв. Акад. наук. Сер. хим. - 2003.- № 2.- С. 364-368.
8. Туманский Б.Л. Исследование методом ЭПР радикальных аддуктов диизопропилфосфорильных радикалов с изомерами $C_{60}\{C[P(O)(OEt)_2]_2\}_2$./ Б.Л. Туманский, Р.Г. Гасанов, В.В. Башилов, М.В. Цикалова, Н.Н. Бубнов, В.И. Соколов, В.П. Губская, Л.Ш. Бережная, И.А. Нуретдинов.// Изв. Акад. наук. Сер. хим.- 2003.- № 7.- С. 1431-1434.
9. Мельникова Н.Б. Монослой Ленгмюра из фосфорилированных производных фуллерена./ Н.Б. Мельникова, М.В. Куликов, И.А. Нуретдинов, В.П. Губская, Л.Ш. Бережная, Г.М. Фазлеева, Ф.Г. Сибгатуллина, А.Д. Зорин, Н.В. Губанова.// Вестник Нижегородского университета. Серия Химия.- 2004.- Выпуск 1 (4).- С. 233-239.
10. Мельникова Н.Б. Совместимость фосфорилированных производных фуллерена и лецитина. Влияние ионов меди./ Н.Б. Мельникова, М.В. Куликов, И.А. Нуретдинов, В.П. Губская, Л.Ш. Бережная, Г.М. Фазлеева, Ф.Г. Сибгатуллина, А.Д. Зорин, Н.В. Губанова.// Известия Вузов. Химия и химическая технология.- 2004.- т. 47.-№ 9.- С. 18-21.
11. Melnikova N.B. Influence of Cu^{2+} ions on monolayer stability in an aqueous subphase and vesicle self- organization on the phosphorylated methanofullerene — lecithin system./ N.B.

- Melnikova, N.V. Gubanova, M.V. Kulikov, I.A. Nuretdinov, V.P. Gubskaya, L.Sh. Berezhnaya, A.D. Zorin. // *Mendeleev Commun.*- 2004.- P. 225-227.
12. Мельникова Н.Б. Включение фосфорилированных производных фуллерена в искусственные мембраны./ Н.Б. Мельникова, М.В. Куликов, И.А. Нуретдинов, В.Р. Губская, Л.Ш. Бережная, Г.М. Фазлеева, Ф.Г. Сибгатуллина, А.Д. Зорин, Н.В. Губанова.// *Вестник Нижегородского университета. Серия Химия.*-2004.- Выпуск 1(4).- С. 240-246.
 13. Губская В.П. Синтез, строение и электрохимическое поведение фосфорилированных метано[60]фуллеренов, содержащих нитроксильные радикалы./ В.П. Губская, Л.Ш. Бережная, В.В. Янилкин, В.И. Морозов, Н.В. Настапова, Ю.Я. Ефремов, И.А. Нуретдинов. // *Изв. АН. Сер. хим.*- 2005.- № 7.- С. 1594-1607.
 14. Franco L. First observation of the hyperfine structure of an excited quintet state in liquid solution./ L.Franco, M. Mazzoni, C. Corvaja, V.P. Gubskaya, I.A. Nuretdinov, L.Sh. Berezhnaya.// *Chem. Commun.*- 2005.- №16.- P. 2128-2130.
 15. Gubskaya V.P. Synthesis, structure and biological activity of nitroxide malonate methanofullerenes./ V.P. Gubskaya, L.Sh. Berezhnaya, A.T. Gubaidullin, I.I. Faingold, R.A. Kotelnikova, N.P. Konovalova, V.I. Morozov, I.A. Litvinov and I.A. Nuretdinov.// *Org.Biomol.Chem.*- 2007.-№ 5.- P. 976-981.
 16. Franco L. TR-EPR of Single and Double Spin-Labeled C₆₀ Derivatives in Frozen Matrices./ L.Franco, M.Mazzoni, C.Corvaja, V.P. Gubskaya, L.Sh. Berezhnaya, and I.A. Nuretdinov.// *App. Magn. Reson.*- 2006.- № 30.- P. 577-590.
 17. Franco L. TR-EPR of single and double spin labelled C₆₀ derivatives: observation of quartet and quintet excited states in solution./ L. Franco, M. Mazzoni, C. Corvaja, V.P. Gubskaya, L.Sh. Berezhnaya, I.A. Nuretdinov.// *Molecular Physics.*-2006.- V. 104.-№ 10-11.- P. 1543-1550.
 18. Gubskaya V.P. Synthesis and characterization of new phosphorilated bis-methanofullerenes/ V.P. Gubskaya, L.Sh. Berezhnaya, I.A. Nuretdinov, G.M. Fazleeva, V.V. Zverev, N.M. Azancheev // Abstract 894, Meeting abstracts.- V.2002-1.- Centennial Meeting, May 12-17, 2002.- Philadelphia, PA, USA.
 19. Yanilkin V.V. Electrochemical reduction of phosphorilated mono-and bismethanofullerenes./ V.V. Yanilkin, V.I. Morozov, V.P. Gubskaya, N.V. Nastapova, L.Sh. Berezhnaya, V.V. Zverev, I.A. Nuretdinov.// Abstract 851, Meeting abstracts.- V. 2002-1.- Centennial Meeting, May 12-17, 2002.- Philadelphia, PA, USA.
 20. Губская В.П. Синтез и строение новых бис-и поли-аддуктов фуллерена C₆₀./ В.П. Губская, Л.Ш. Бережная, Г.М. Фазлеева, Н.И. Шишикина, В.В. Зверев, И.А.Нуретдинов.// *Международный Симпозиум «Фуллерены и фуллереноподобные структуры в конденсированных средах»*, Минск.- 2002.- Сборник тезисов докладов. Изд. Белгосуниверситета.- С.219.
 21. Gasanov R.G. Study of spin-spin adducts for radicals OP*(OPR)₂, Me₃C*, Me(CH₂)₃*CH₂ to methano- and pyrrolidino[60]fullerenes by ESR spectroscopy./ R.G. Gasanov, B.L. Tumanskii, V.I. Sokolov, V.V. Bashilov, M.V. Tsikalova, I.A. Nuretdinov, V.P. Gubskaya, V.V. Zverev, L.Sh. Berezhnaya, and G.M. Fazleeva.// *Book of Abstracts 6th Biennial International Workshop Fullerenes and Atomic Clusters*, June 30-July 4 2003.- St Petersburg, Russia.- P. 110.
 22. В.В. Янилкин Электронный перенос и последующие превращения в ряду фосфорилированных моно-и бисметанофуллеренов./ В.В. Янилкин, Н.В. Настапова, А.В. Торопчина, В.И. Морозов, В.П. Губская, Л.Ш. Бережная, Ф.Г. Сибгатуллина, И.А.

- Нуретдинов.//XVII Менделеевский съезд по общей и прикладной химии.- 21-26 сентября 2003.- Казань.-Тезисы докладов.-Т. 2.- С. 460.
23. I.A.Nuretdinov, V.P.Gubskaya, F.G.Sibgatullina, E.V.Ovechkina, I.P.Karaseva, L.Sh.Berezhnaya, and G.M. Fazleeva./ Synthesis and structures of the new substituted methanofullerenes and pyrrolidinofullerenes.// Book of Abstracts 6th Biennial International Workshop Fullerenes and Atomic Clusters, June 30-July 4 2003.-St Petersburg, Russia.- P. 120.
 24. Нуретдинов И.А. Функционально замещенные фуллерены для нанотехнологии./ И.А. Нуретдинов, В.П. Губская, В.В. Янилкин, Л.Ш. Бережная, Ф.Г. Сибгатуллина, Г.М. Фазлеева, Е.В. Овечкина, Н.И. Шишикина.// IV Международная конференция «Химия высокоорганизованных веществ и научные основы нанотехнологии.» Авторефераты докладов, С- Петербург.- 2004.- С. 259.
 25. И.А. Нуретдинов Поиск путей применения новых производных фуллеренов в биологии и нанотехнологии./ И.А. Нуретдинов, В.П. Губская, Л.Ш.Бережная, Г.М Фазлеева, Ф.Г. Сибгатуллина, Н.Б Мельникова, М.В. Куликов, Н.В. Губанова, А.Д. Зорин.// Международный симпозиум «Фуллерены и фуллереноподобные структуры в конденсированных средах». Сборник материалов. Минск. -2004.- С. 32-33.
 26. Н.Б.Мельникова, М.В.Куликов, А.Д.Зорин, Н.В.Губанова, И.А.Нуретдинов, В.П.Губская, Л.Ш. Бережная, А.В.Ильясов, Н.М.Азанчеев./Модели искусственных мембран на основе фосфорилированных производных фуллерена.//IV Международная Конференция «Химия высокоорганизованных веществ и научные основы нанотехнологии».-Авторефераты докладов.-С-Петербург.- 2004.- С.92.
 27. А.Т.Губайдullin, Л.Ш.Бережная, Е.В.Овечкина, И.А.Литвинov, V.P.Gubskaya, I.A.Nuretdinov./ Supramolecular structure of the mono- and bis-adducts of fullerene C₆₀/Third International symposium Molecular design and synthesis of supramolecular architectures.- Kazan, Russia.-20-24 September 2004.- Program Abstracts.-P. 92.
 28. Gubskaya V.P. Synthesis of new methanofullerenes, their structures and properties./ V.P. Gubskaya, A.T. Gubaidullin, V.V. Yanilkin, V.I. Morozov, F.G. Sibgatullina, L.Sh. Berezhnaya, G.M. Fazleeva, I.A. Litvinov, I.A. Nuretdinov.// XIX International conference on chemistry of phosphorus compounds.- Kazan, Russia.- June 27-July 2005.- P.58.
 29. Morozov V.I. The magnetic exchange in the neutral and anionic states of methanofullerenes containing one and two nitroxide radicals./ V.I. Morozov, V.V. Yanilkin, N.V. Nastapova, V.P. Gubskaya, L.Sh. Berezhnaya, I.A. Nuretdinov.// 7th Biennial International Workshop Fullerenes and Atomic Clusters.- June 27-July 1 2005.- St. Petersburg, Russia.- Book of Abstracts.-P. 95.
 30. Ефремов Ю.Я. Особенности масс-спектрометрии стабильных нитроксильных моно- и бирадикалов и их фуллереновых производных./ Ю.Я. Ефремов, Д.Р. Шарафутдинова, Е.Ю. Сафонова, Л.Ш. Бережная, В.П. Губская, И.Ф. Нуретдинов.// Второй съезд ВСМО. Российская конференция с международным участием «Масс-спектрометрия и ее прикладные проблемы».- 12-16 сентября 2005, Москва.- Тезисы докладов. - 2005.- С. 3.
 31. Нуретдинов И.А. Синтез, строение и свойства моно- и поли-нитроксильных производных фуллерена C₆₀./ И.А. Нуретдинов, В.П. Губская, Л.Ш. Бережная, В.В. Янилкин, В.И. Морозов, С. Согауа, А.Т. Губайдуллин.// III международная конференция «Высокоспиновые молекулы и молекулярные магнетики.» Тезисы докладов. Иваново.-13-16 июня 2006.- С. 8.
 32. Нуретдинов И.А. Синтез и свойства новых нитроксидных метанофуллеренов C₆₀ и C₇₀./ И.А. Нуретдинов, В.П. Губская, Л.Ш.Бережная, А.Т. Губайдуллин.// XVIII

- Менделеевский съезд по общей и прикладной химии, Москва, 23-28 сентября 2007г.- Тезисы докладов в пяти томах.- Том 2.- Химия наноматериалов, наноструктуры и нанотехнологии.- Москва, 2007.- С. 204.
33. Нуретдинов И.А. Синтез новых производных фуллерена и поиск противораковых препаратов./ И.А. Нуретдинов, В.П. Губская, Л.Ш. Бережная, Г.М. Фазлеева, К.Л. Нодов.// VI Всероссийский научный семинар «Химия и медицина», 26-29 ноября 2007 г.- Тезисы докладов.- Уфа.- 2007.- С.31. Приглашенный пленарный доклад.
34. Nuretdinov I.A. New nitroxide methanofullerenes C_{60} and C_{70} . Synthesis and properties./ I.A. Nuretdinov, V.P. Gubskaya, L.Sh. Berezhnaya, A.T. Gubaidullin.// 8th Biennial International Workshop «Fullerenes and Atomic Clusters» (IWFAC'2007).- July 2-6 2007.- S.Petersburg, Russia, Book of Abstracts.- 2007.- P. 125.
35. Gulyaev I.V. Nitroxide malonate methanofullerenes: interaction of Langmuir monolayers and films with radical antioxydants./ I.V. Gulyaev, N.B. N.B. Melnikova, A.A. Volkov, I.A. Nuretdinov, V.P. Gubskaya, L.SSh. Berezhnaya.// 8th Biennial International Workshop "Fullerenes and Atomic Clusters" (IWFAC' 2007), July 2-6 2007.- S.Petersburg, Russia.- Book of Abstracts.- 2007.- P. 217.

*Отпечатано в ООО «Печатный двор».
г. Казань, ул. Журналистов, 1/16, оф.207
Тел: 272-74-59, 541-76-41, 541-76-51.
Лицензия ПД №7-0215 от 01.11.2001 г.
Выдана Поволжским межрегиональным
территориальным управлением МПТР РФ.
Подписано в печать 27.04.2009г. Усл. п.л 1,2
Заказ № К-6694. Тираж 75 экз. Формат 60х84 1/16.
Бумага офсетная. Печать - ризография.*